

LÉKAŘSKÁ MYKOLOGIE

INTRO



Vit Hubka, M.D., MSc., Ph.D.
Charles University

Co je to Lékařská Mykologie?

- relativně mladá subdisciplína lékařské mikrobiologie
- zabývá se **všemi aspekty onemocnění člověka a živočichů působených houbami** (a jim podobnými organismy), tj. mechanismy patogeneze, klinický obraz infekcí, diagnostika, léčba, prevence, epidemiologie, atp.
- institucionalizace většinou až v období po 2. svět. válce
- klinici (lékaři), laboratorní pracovníci a výzkumníci sami sebe většinou neoznačují jako „lékařští mykologové“ (dermatologové, patologové, bakteriologové, mikrobiologové, atd.)



Dělení mykóz - dle lokalizace / patologie

POVRCHOVÉ MYKÓZY

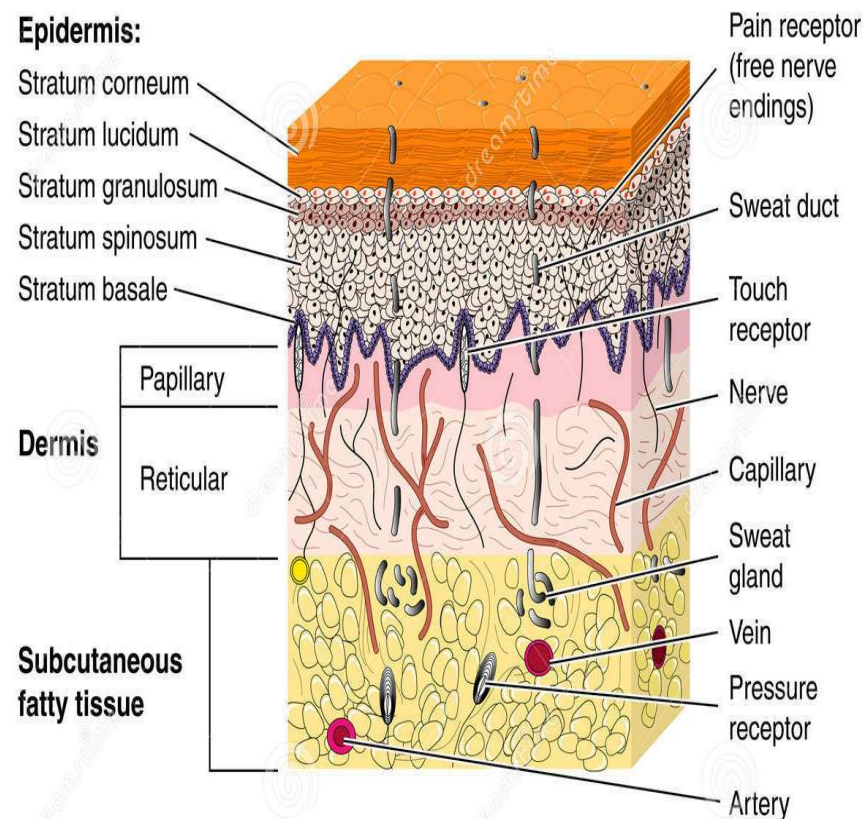
- **kožní** (nepronikají do dermis kůže)
- **slizniční** (nejč. povrchové kandidózy)

PODKOŽNÍ MYKÓZY, KERATOMYKÓZY

traumatická implantace

HLUBOKÉ MYKÓZY

- **primární patogeni, endemické mykózy**
napadají i zdravého hostitele, geografické omezení
na endemické oblasti
- **sekundární (oportunní), systémové mykózy**
imunokompromitovaný hostitel



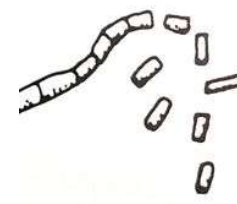
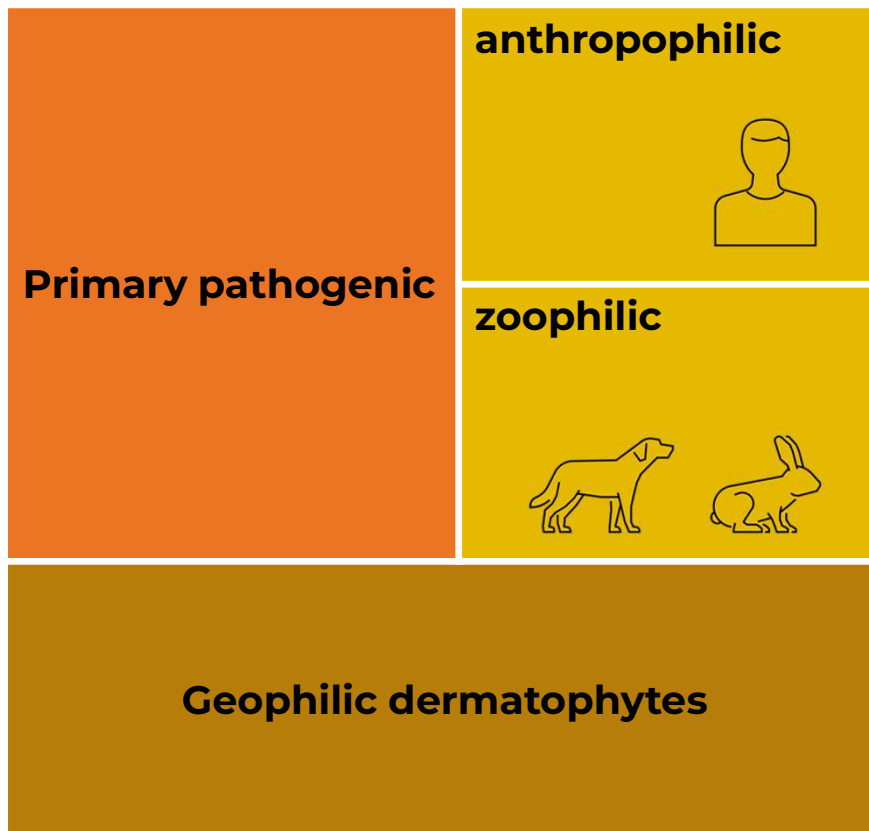
Proč je Lékařská Mykologie důležitá?

povrchové mykózy



Faculty of Science
CHARLES UNIVERSITY IN PRAGUE

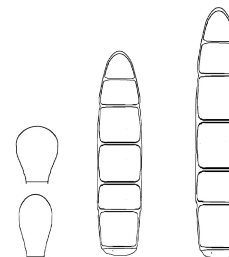
- ekologicky a fylogeneticky příbuzné druhy
- řád Onygenales, čeleď *Arthrodermataceae*



DERMATOFYTY.

Ekologie

TINEA (DERMATOFYTÓZA, RINGWORM)





KLINICKÁ MANIFESTACE.

INFEKCE ZPŮSOBENÉ
ANTROPOFILNÍMI DERMATOFYTY

- obvykle **mírné** ale často se **opakující** infekce
- dlouhá koevoluce a adaptace na hlavního hostitele





KLINICKÁ MANIFESTACE.

ZOONOTICKÉ INFEKCE

- obvykle **silně zánětlivé**
- tendence k „samoúzdravě“
- **děti >> dospělí**
- ženy > muži





KLINICKÁ MANIFESTACE.

INFEKCE ZPŮSOBENÉ ZOOFILNÍMI DRUHY U ZVÍŘAT

- obvykle **mírné symptomy u hlavního hostitele**
- častá „**asymptomatická**“ zvířata
- závažnost závisí na věku, imunologickém stavu zvířete, stresorech, apod.



Slizniční mykózy

VULVOVAGINÁLNÍ KANDIDÓZA (VVC)

- prodělá **50–75% žen ve fertilním věku**
- odhadem **5–8 % žen trpí recidivující VVC každý rok**

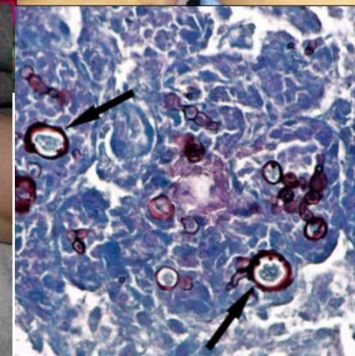
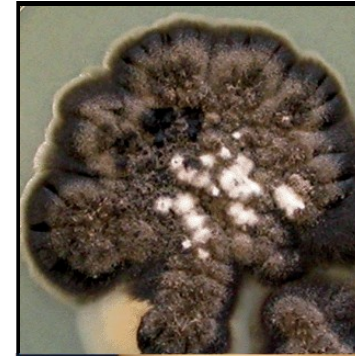
SOOR (kvasinková infekce dutiny ústní)

- v krajinách s **↑HIV** – soor a jícnové kandidózy
- relativně častý výskyt u jedinců se **zubními protézami**, při užívání **inhalačních kortikosteroidů** (astma), **chemoterapie**, ozařování oblasti hlavy a krku
- časté u **malých dětí**



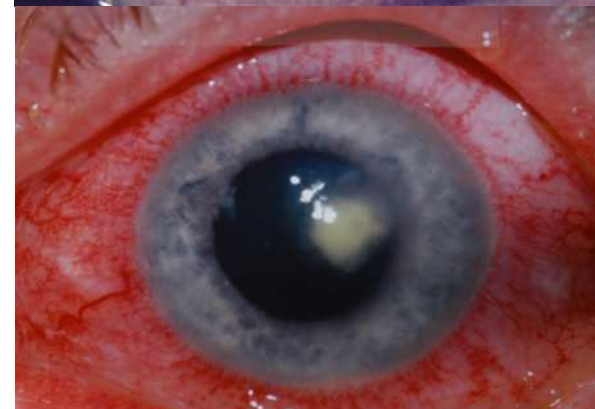
Podkožní mykózy

- **feohyfomykóza** (phaeohyphomycosis)
 - **hyalohyfomykóza** (hyalohyphomycosis)
 - **chromoblastomykóza** (chromoblastomycosis)
 - **sporotrichóza** (sporotrichosis)
 - **eumycetom** (eumycetoma)
- obvykle **traumatická implantace** - trn, tříška (rostlinní patogeni), poranění v domácnosti (extremofilní černé kvasinky), škrábnutí zvířetem



Keratomykózy (mykotické keratitidy)

- traumatická implantace nebo následek nošení kontaktních čoček
- po domácku vyráběné roztoky, nedostatečná hygiena, nošení čoček po expiraci)



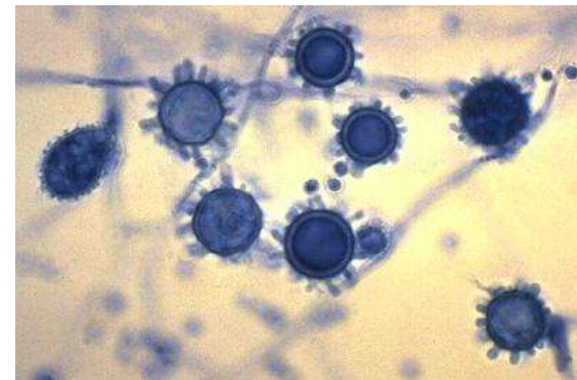
Endemické mykózy

dimorfní houby

- **primární i oportunní patogeni**
- **rezervoár půda** => vdechnutí spor nebo fragmentů mycelia, poranění => komplexní syndromy (plicní, kožní, aj.)
- **obtížná (i riziková) diagnostika** (kultivační, imunologická, molekulární - dostupnost v ČR?)
- **BSL-3 organismy**



endemické oblasti rozšíření *Histoplasma capsulatum*



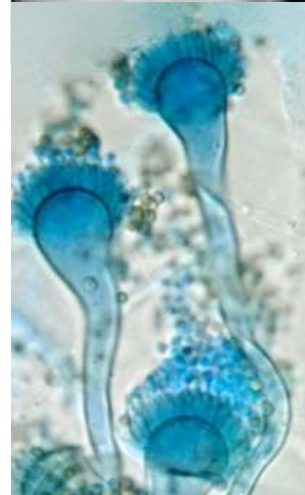
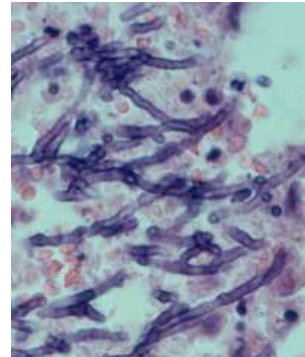
↑ makrokonidie *H. capsulatum*; guánová kupa ↓



Systémové mykózy

Invazivní oportunní infekce

- diagnóza stanovená na základě **rizikových faktorů na straně hostitele** (imunokompromitovaný), klinického obrazu, a potvrzení histologií nebo kultivací (EORTC+MSG kritéria)
- postihuje **jakýkoliv orgán, může diseminovat**
- **výrazně méně případů v porovnání s povrchovými**
- **velmi vysoká mortalita: cca 50 %**
- **90%** případů rody *Aspergillus*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Pneumocystis*





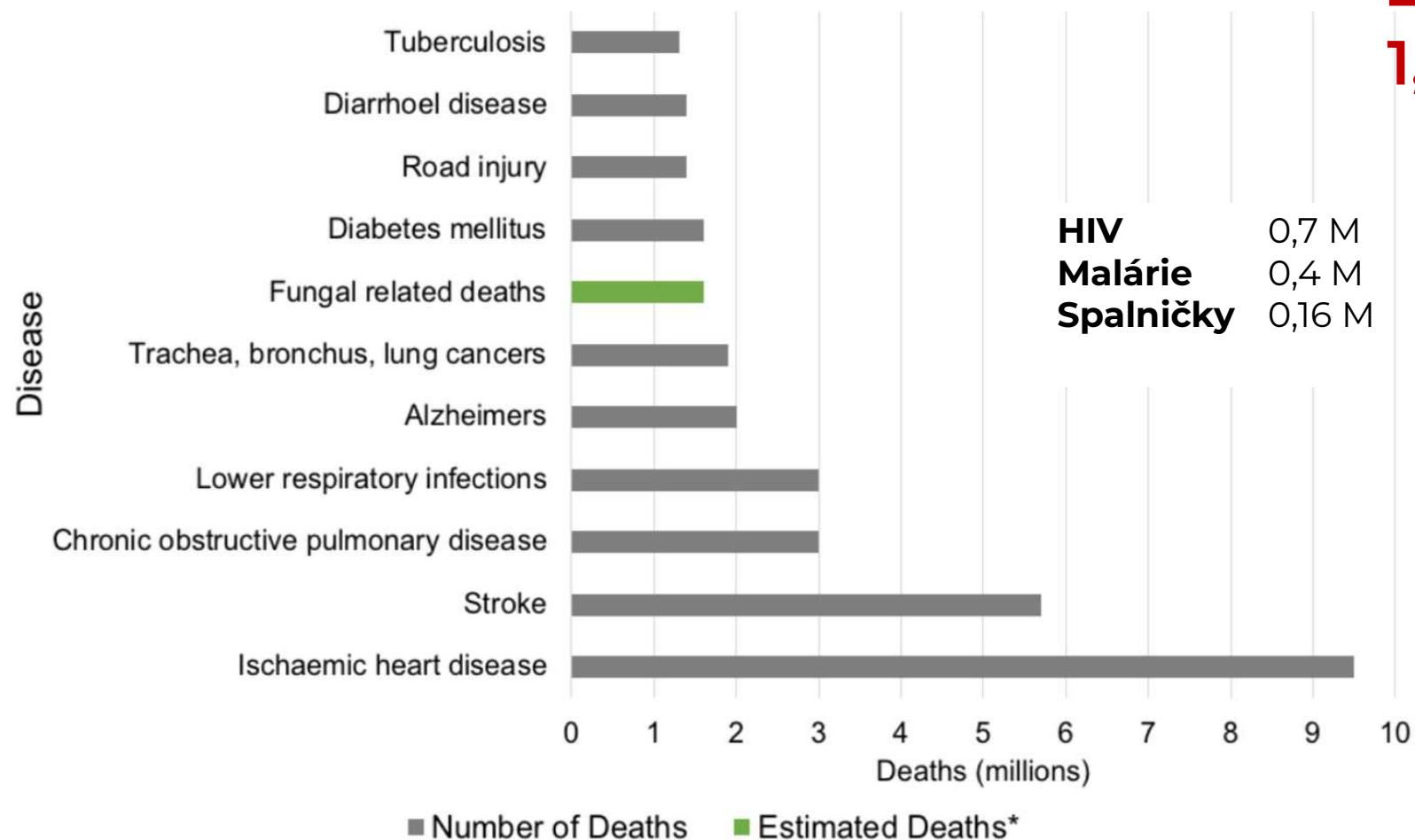
Prioritní houboví patogeni

Světová zdravotnická organizace (WHO)

- **celosvětový nárůst mykóz:** pandemie COVID-19, změna klimatu, nárůst rezistence k antimykotikům a počet imunokompromitovaných pacientů
- seznam **19 prioritních** houbových **patogenů** představujících největší hrozbu pro veřejné zdraví
- upozornění na nejdůležitější patogeny a hrozby
- **stanovení priorit ve výzkumu a vývoje** ve 3 kategoriích: kritické, vysoké a střední priority

WHO top 10 global causes of deaths, 2016

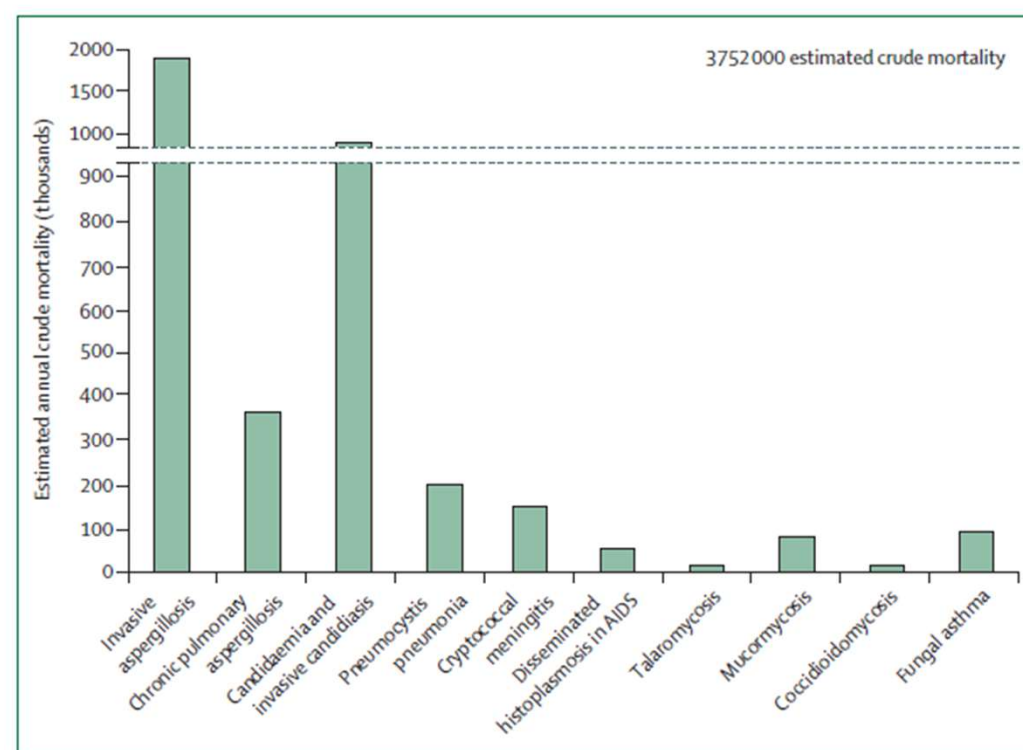
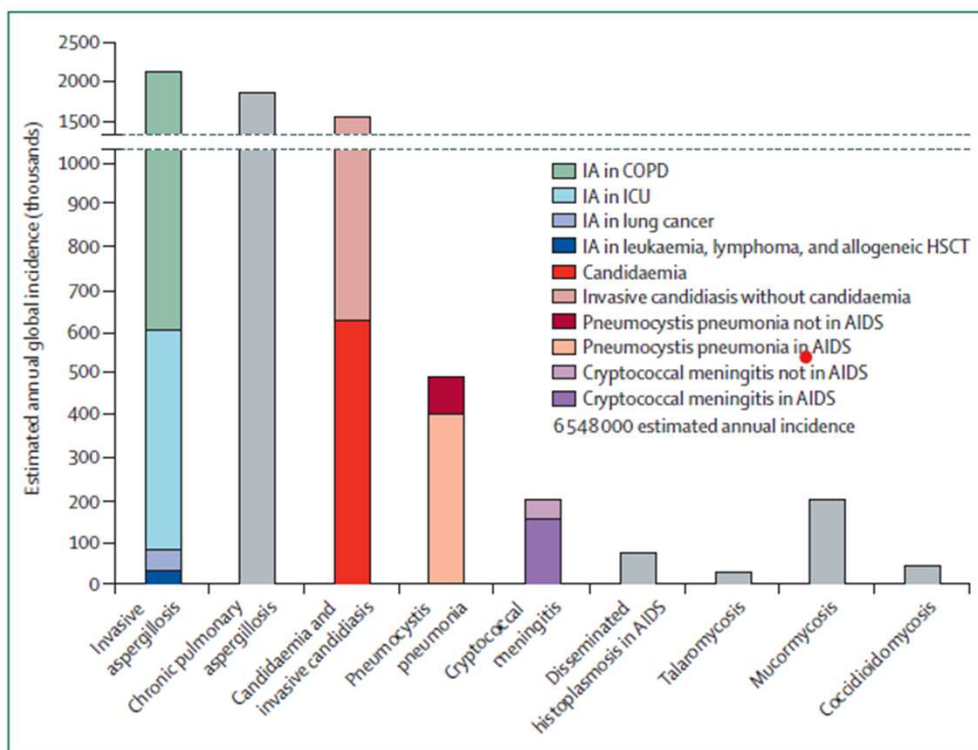
2016
1,7 M



Systémové mykózy

celosvětová incidence / mortalita

2024
3,8 M



Denning (2024) Lancet Infect Dis 2024; 24: e428–38

Život-ohrožující systémové mykózy

celosvětová incidence / mortalita

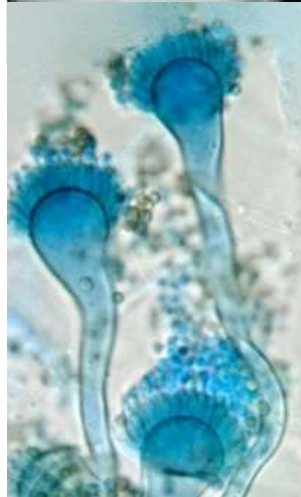
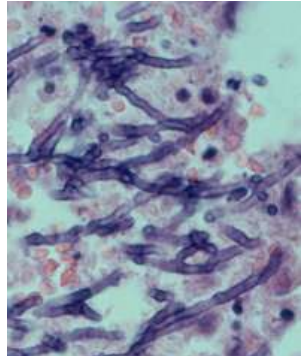
- **incidence 6,5 M, z toho 3,8 M úmrtí** (2,5 M, 68 %, jasně zapříčiněných houbami)
- mortalita se za poslední desetiletí zdvojnásobila

Mykóza	Incidence	Mortalita (%)
Invazivní aspergilóza	2,11 M	1,8 M (85 %)
Chronická plicní aspergilóza	1,84 M	340 tis. M (18 %)
Invazivní kandidóza / kandidémie	1,565 M	1 M (64 %)
Pneumocystová pneumonie	500 tis.	210 tis. (42 %)
Kryptokoková meningitida	194 tis.	147 tis. (76 %)
Ostatní	300 tis.	161 tis. (54 %)

Systemové mykózy

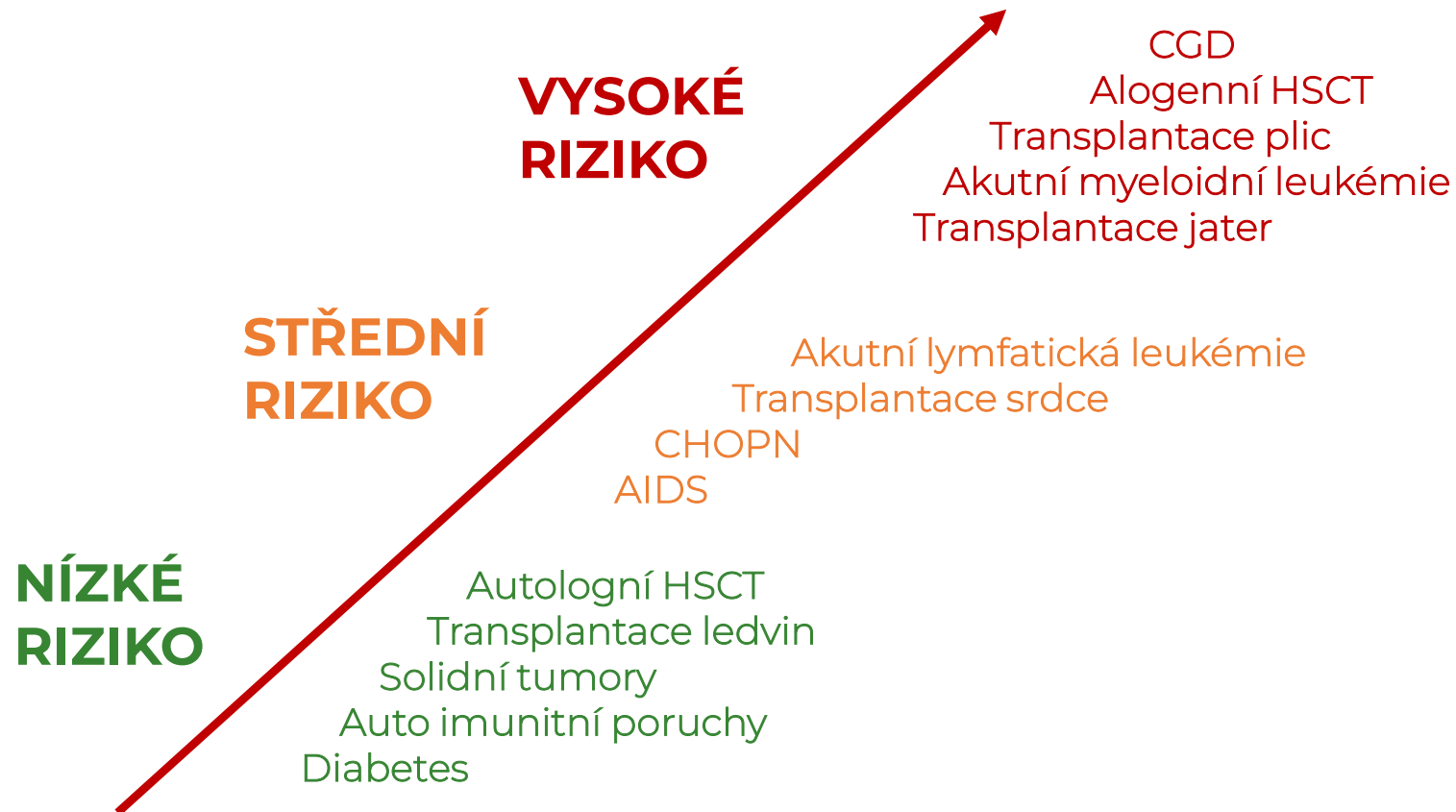
Invazivní oportunní infekce

- **důležitější jsou rizikové faktory na straně hostitele** než faktory virulence houby
- **časná diagnostika zvyšuje výrazně šanci na přežití pacientů** - ATM terapie, chirurgická excize
- problémem v léčbě může být multirezistence k ATM



Riziko vzniku systémové mykózy

stratifikace pacientů



Systémové mykózy

zdroje infekce

ENDOGENNÍ

- běžná flóra pacienta (GIT, kožní)
- porušení bariér, pomnožení v GIT a porušení mukózy střeva

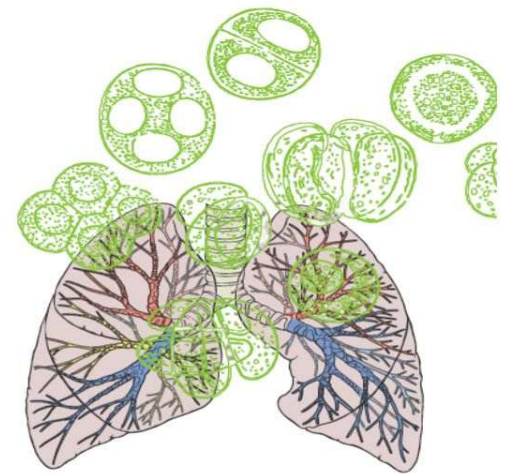


Systémové mykózy

zdroje infekce

EXOGENNÍ / IATROGENNÍ

- vdechnutí spor - většinou drobné nepohlavní spory (konidie)
- poranění, popáleniny, předchozí nedoléčená infekce
- ruce zdravotnického personálu
- kontaminované roztoky a roztoky pro parenterální výživu
- srdeční chlopně, umělé materiály, tkáně a náhrady
- intravenózní katétry, drény, parenterální výživa
- chemoterapie - mukositida
- umělá plicní ventilace
- dialýza
- operace, hospitalizace (zejména JIP)

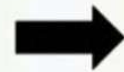


**Člověk inhaluje tisíce
až stamiliony spor
každý den**

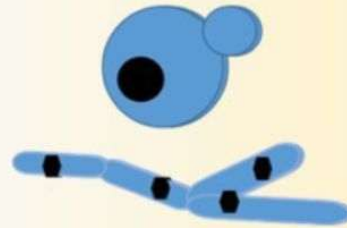
PRESENT



Majority of fungal species with animal pathogenic potential cannot grow at 37 °C and are avirulent for mammals because mammalian temperatures create a thermal exclusionary zone



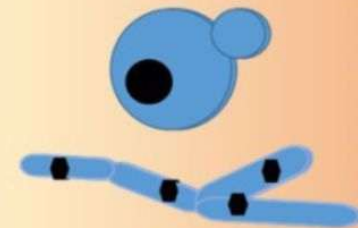
NEAR HORIZON



As global temperatures rise fungal species adapt to higher ambient temperatures and some gain capacity to grow at 37 °C



FAR HORIZON



New fungal pathogens for humans emerge from the combination of animal pathogenic potential and the capacity to grow at 37 °C

PATOGENI BEZOBRATLÝCH

- řada ekonomicky nebo ekologicky extrémně významných druhů
- velká část zatím neobjevena

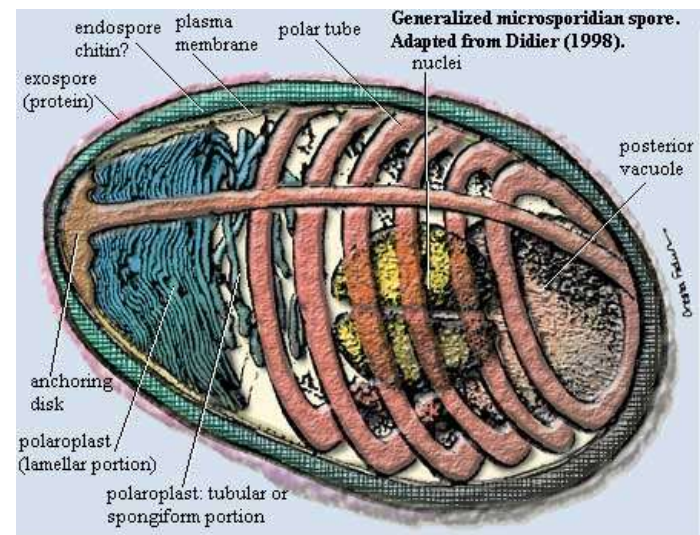


Entomopatogenní houby

mikrosporidie: *Nosema apis*, *N. ceranae*

NOSEMÓZA (střevního onemocnění včel)

- ***N. apis*** (hmyzomorka včelí) - průjmovitě onemocnění, malátné pohyby, úhyn
- ***N. ceranae*** - nový druh z Asie, rychlejší hynutí, bez výrazných klin. příznaků
- **symptom zhroucení včelstva** (colony collapse disorder), rychlý pokles počtu jedinců ve včelstvu, vymření celého včelstev
- nutná karanténa kolem ohniska 5 km a likvidace včelstev



Entomopatogenní houby

- ***Beauveria*** - patogenní pro řadu druhů hmyzu, včetně bource morušového
- ***Paecilomyces*** - široké spektrum hostitelů, různá vývojová stadia
- ***Coelomomyces*** - larvy komárů
- ***Entomophthorales*** – mouchy

VYVINUTÉ BIOPREPARÁTY - v ČR již zakázány

- na bázi *Lecanicillium lecanii* - proti mšicím
- na bázi *Beauveria bassiana* - proti mandelinkám, zavíječům, obalečům, chroustům
- na bázi *Metarhizium anisopliae*



Ophiocordyceps

manipulace s hostitelem, zejména popsáno u mravenců

How to make a zombie ant

Ophiocordyceps unilateralis, a fungus found in the tropical rainforests of Thailand, survives by controlling carpenter ants.

ACTUAL SIZE



1. INFECTION

A foraging carpenter ant walks through an area of the rainforest floor infested with microscopic spores dropped by a mature fungus. The spore excretes an enzyme that eats through the ant's exterior shell.



2. DEATH GRIP

After two days, the ant leaves its tree colony and climbs down to a spot where humidity and temperature are optimal for the fungus to grow. The ant crawls onto a stem or the underside of a leaf and bites into its main middle vein so it won't fall. Then it dies.



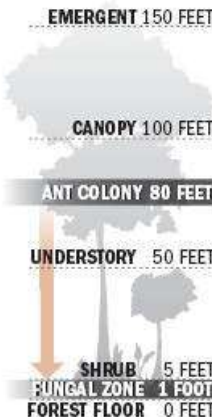
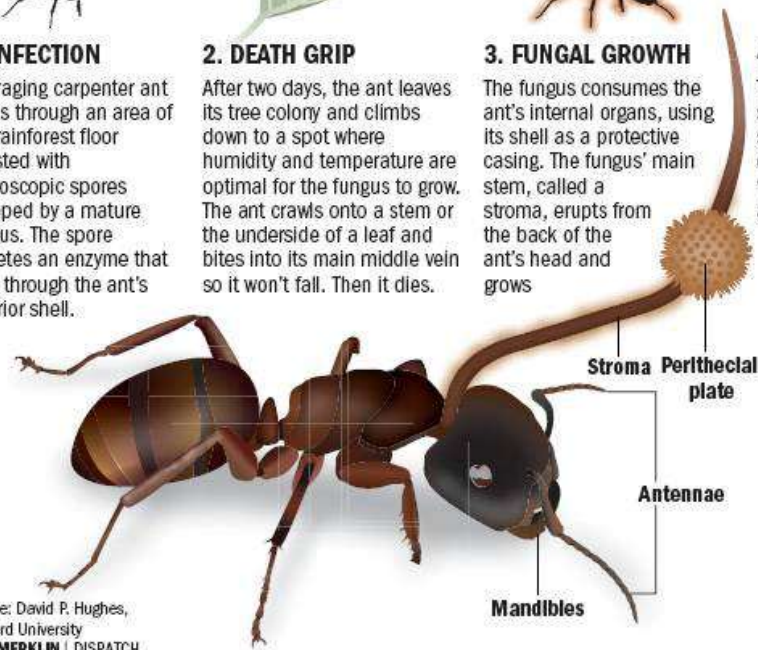
3. FUNGAL GROWTH

The fungus consumes the ant's internal organs, using its shell as a protective casing. The fungus' main stem, called a stroma, erupts from the back of the ant's head and grows



4. "KILLING ZONE"

The mature fungus releases spores from its stroma. The spores fall to the ground, creating a 10-square-foot "killing zone," which will attack new ants.



Source: David P. Hughes, Harvard University
LISA MERKLIN | DISPATCH



© Alex Wild
alexanderwild.com



Vít Hubka, M.D., MSc., Ph.D.
Charles University

Lethargic Crab Disease

Exophiala cancerae, *Fonsecaea brasiliensis*

- nazváno dle pomalých pohybů krabů
- výrazné **snížení populace**
suchozemských krabů (*Ucides cordatus*)
žijících **v mangrovových porostech** podél
brazilského pobřeží krab lokálně
významný pro obživu obyvatel
- původci onemocnění ze skupiny tzv.
„černých kvasinek“ (Chaetothyriales)



Aspergilóza mořských korálů

Aspergillus sydowii

- **infekční aspergilóza** některých karibských korálů, **podíl na tzv. „bělení korálů“**
- **první velká epidemie popsána v roce 1995**
- zvýšená teplota a zvýšený přísun živin do moře patří mezi stresory a podílí se na vzniku epidemií v oblasti

Devastace korálů (*Gorgonia* spp.) způsobená druhem *Aspergillus sydowii*



EMERGING PATOGENI OBRATLOVCŮ

hrozba extinkce nebo výrazného poklesu populací
některých druhů



Faculty of Science
CHARLES UNIVERSITY IN PRAGUE

white nose syndrom

Pseudogymnoascus destructans

- nárůsty houby na čenichu a létací bláně během hibernace → oslabení jedinců
- **2007 - iniciální epidemie**, hromadné úhyny netopýrů v NY (USA) → rozšíření po celé S. Americe do několika let
- **populace některých druhů sníženy o >70%**, přinejmenším u druhu *Myotis lucifugus* je šance kolem 99%, že bude lokálně vyhuben do cca 15 let - důsledky pro jeskynní ekosystémy



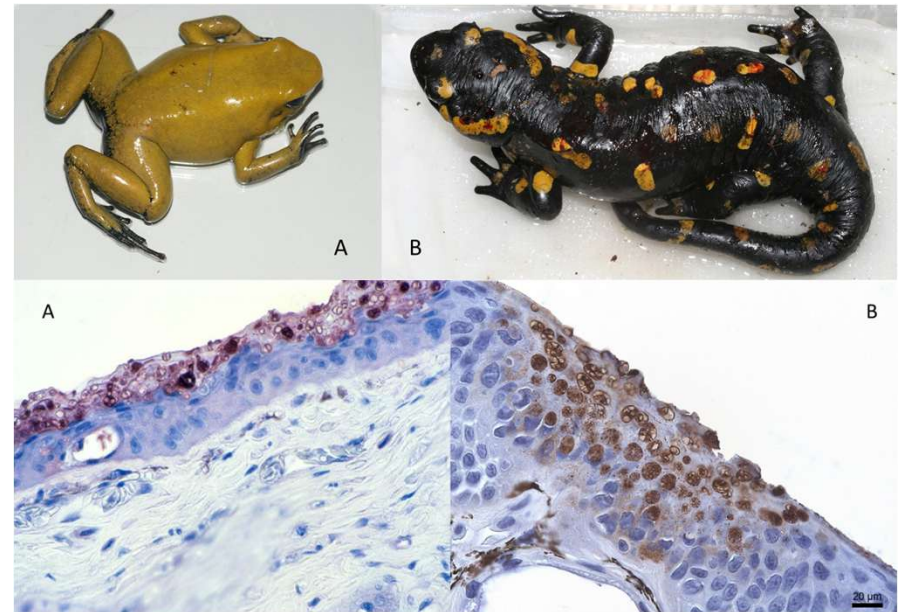
Akumulace vitamínu B2 při růstu houby se využívá k diagnostice (oranžová fluorescence pod UV); podílí se také na patogenezi WNS

chytridiomykóza

Batrachochytrium



- **onemocnění obojživelníků**
- populace obojživelníků v Americe a Austrálii klesají od 70. let, výrazněji od 90. let
- **devastace populací, nebo vyhubení více než 200 druhů** (asi více - slabý monitoring, kryptická diverzita); některé oblasti Střední Ameriky ztratily přes 40% druhů obojživelníků
- **v současnosti šíření v Evropě**



snake fungal disease

Ophidiomyces ophiodiicola

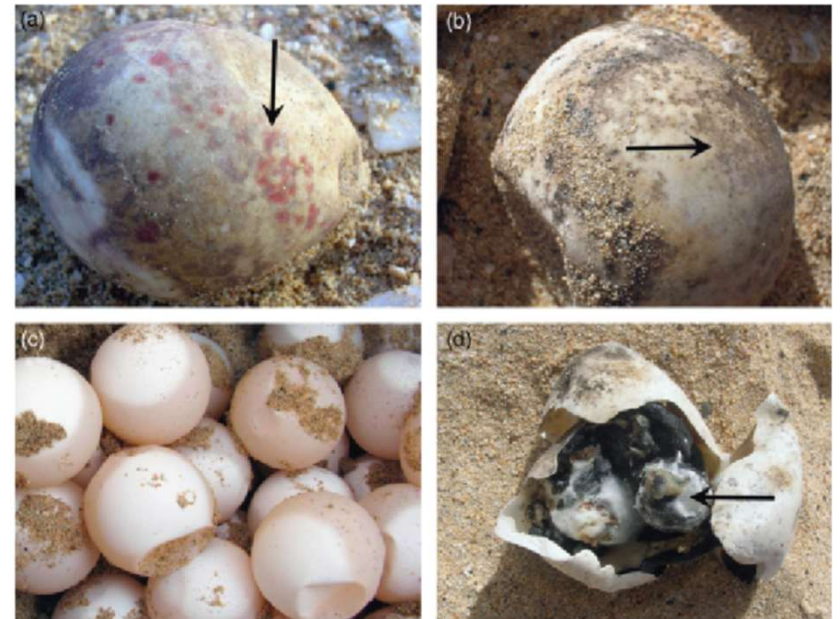
- významný nárůst případů popisovaný cca od roku 2006
- **až 50% úbytek lokálních populací** některých druhů (důsledky pro ekosystém - kontrola populace hlodavců)
- **ohrožené hlavně malé, izolované populace** hibernující při vyšších teplotách
- globální trend poklesu populací hadů (úbytek a fragmentace životního prostředí, nedostatek kořisti, klimatické změny)
- **analogie s „white-nose syndromem“ netopýrů**: hromadná společná hibernace různých
- druhů v podzemních prostorech, imunitní systém je oslaben během hibernace,
- patogen dovede napadnout více hostitelů a přežívat v prostředí nezávisle na nich



Fusarium solani vs. ***kareta obecná*** (*Caretta caretta*)

- běžná půdní houba, dnes **odpovědná za pokles vylíhnutých a přežívajících mladých jedinců**; spolu s mnoha dalšími faktory ohrožuje přežití výrazně ohroženého druhu...

... a že jich je dost: utonutí v sítích, znečištění oblastí výskytu, požití plastů, predace v průběhu kladení vajec a devastace hnízd nepůvodními druhy predátorů, pokles míst ke kladení vajec, plenění hnízd člověkem, nadměrné srážky, přílivové zaplavení, další patogeni....



FAKTORY VIRULENCE

LÉKAŘSKÁ MYKOLOGIE



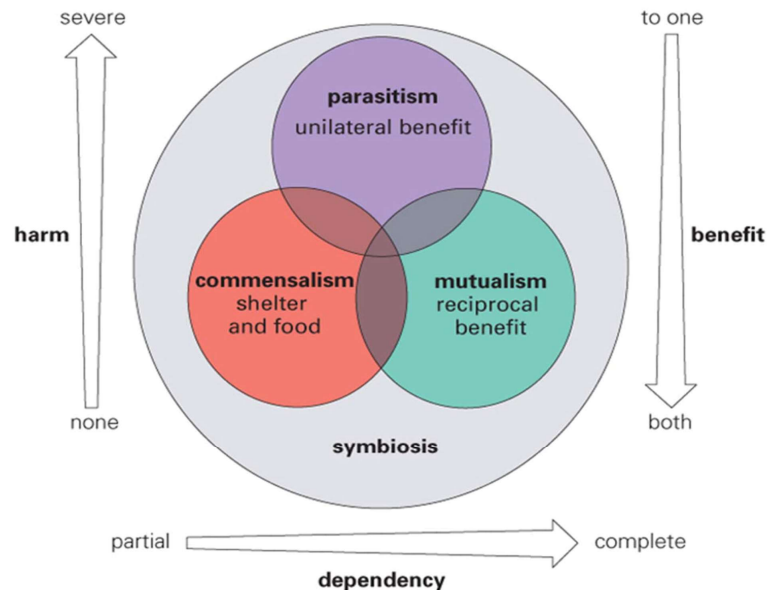
Vít Hubka, M.D., MSc., Ph.D.
Charles University

*„umožňují mikroorganismům
efektivně kolonizovat
hostitelské tkáně, proniknout
do hostitele a poškozovat ho,
množit se v „nepříznivých“
podmínkách těla hostitele“*

PATOGENITA



**Schopnost poškozovat
hostitele a vyvolat u něj
onemocnění.**

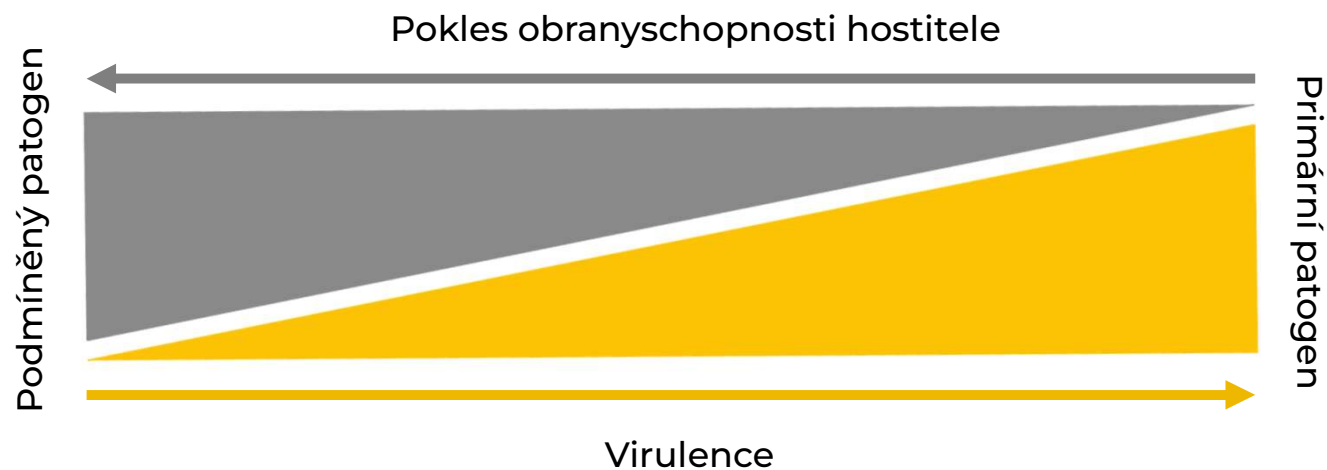


- zahrnuje schopnost **proniknout** do organismu, **udržet se** v něm (odolávat obranným mechanismům hostitele) a **získávat živiny**
- dána **vnímavostí hostitele a virulencí patogena**
- **dynamický stav** – patogen se snaží množit a hostitel se ho snaží zbavit
- poměrně vzácná vlastnost u hub vzhledem jejich celkovému známému počtu
- organismy **nepatogenní a patogenní**



PATOGENNÍ HOUBY

- **obligátně patogenní**
- **oportunně patogenní**
(podmíněně, fakultativně)



PATOGENEZE STUPŇOVITÝ PROCES



Faktory virulence působí na různých úrovních.

ADHEZE KOLONIZACE INVAZE

neadherované mikroorganismy odstraňovány proudem moče, pohybem trávicího traktu, pohybem řasinek, deskvamací buněk

předpokladem kolonizace povrchů (sliznice) **je adherence** (dočasná nebo trvalá); kolonizace asymptomatická; předchází invazi a infekci (eventuálně diseminaci) se vznikem symptomů

DISEMINACE

invaze do tkání → **generalizace infekce diseminací**

poškození tkání, fungémie (přítomnost v krvi), šíření lymfou, ascendentní šíření (z urogenitálního traktu), původce nalézán daleko od místa vstupu do organismu

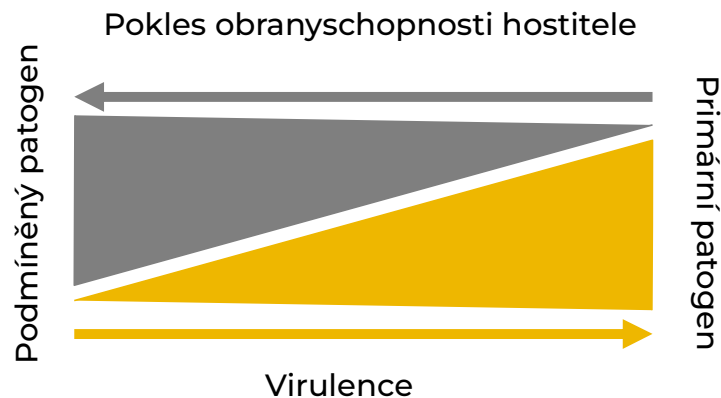
INKUBAČNÍ ČAS

asymptomatická perioda mezi momentem infekce (často neznámý) **a objevením příznaků** onemocnění (dny až roky)

VIRULENCE



Vyjadřuje míru patogenity
(kvantitativní vyjádření patogenity
nebo srovnání vůči jinému patogenu)



- **individuální vlastnost určitého kmenu/druhu**
- vysoce virulentní kmen snadno proniká do organismu a poškozuje jej i při malé infekční dávce
- celková virulence dána množstvím faktorů virulence, které patogen vytváří
- selekcí je možné **virulenci zvyšovat** (pasáž na vnímavých zvířatech, mutace, GMO vč. bioterorismu) nebo **snižovat = atenuovat** (pěstování za nepříznivých podmínek – některé vakcíny, mutace, GMO)



SLOŽKY VIRULENCE



KONTAGIOZITA PŘENOSNOST

- **závisí na počtu vylučovaných mikrobů, infekční dávce**, chování hostitele (změna chování - škrábání, kašel, kýchání, průjem, ...)

TOXICITA

- **poškození přímé** (buněčná smrt – toxiny, mech. poškození, intracelulární množení, mikrobiálně indukovaná apoptóza), postižení metabolismu
toxiny, mechanické příčiny (paraziti, záškrty)
- **poškození nepřímé** (obránnou reakcí hostitele)

INVAZIVITA

- **adherence, penetrace** (produkce enzymů)
- **přežití a množení** (rezistence k fagocytóze, potlačení imunity, změna v prezentaci antigenu, vyrovnání se nedostatkem Fe, aj.)



KVANTIFIKACE VIRULENCE



Kvantifikuje se např. jako počet choroboplodných zárodků (dávka), který za standardních podmínek indukuje ...

ID₅₀

INFEKČNÍ DÁVKA

... indukuje nemoc u 50% hostitelů

(např. u citlivého experimentálního zvířete)

ID₉₀, ID₁₀₀

LD₅₀

LETÁLNÍ DÁVKA

... způsobí smrt u 50% hostitelů

LD₉₀, LD₁₀₀

TCID₅₀

TISSUE CULTURE INFECTING DOSE

... poškodí 50% tkáňových kultur

KVALITATIVNĚ

vysoká virulence ⇔ nízká v. ⇔ avirulence



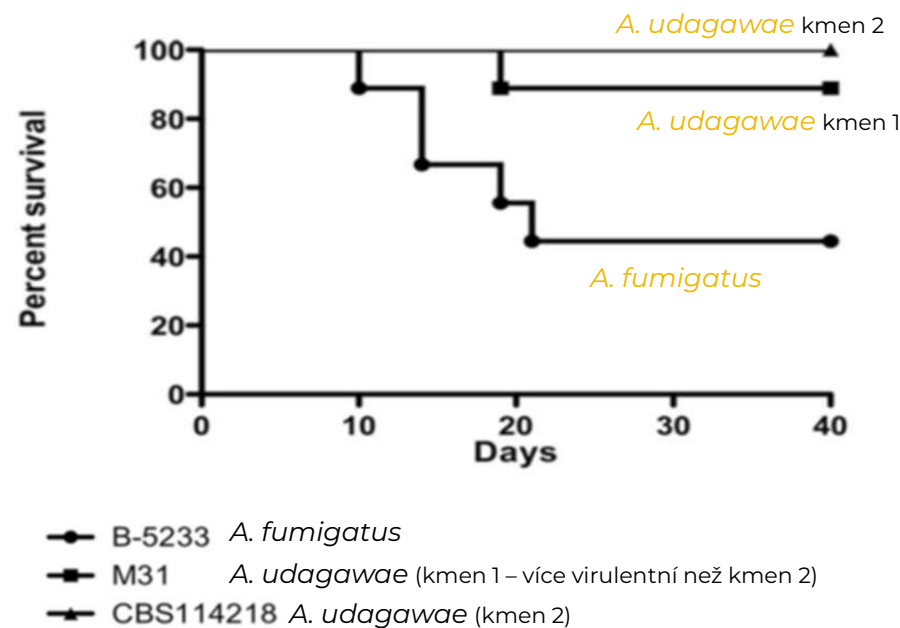
KVANTIFIKACE VIRULENCE **PŘÍKLAD**

Porovnání virulence (laboratorní model – myš)
mezi *Aspergillus fumigatus a blízce příbuzného
druhu *A. udagawae***, který je méně virulentní**

* původce zejména invazivní aspergilózy s vysokou letalitou

** působí spíše chronické plicní infekce

Popis experimentu: 18 myší inokulováno 5×10^3
konidiemi a byly sledovány po 40 dní.
Hodnota 5×10^3 odpovídá zhruba LD₅₀ u *A. fumigatus*;
LD₅₀ pro *A. udagawae* bude daleko vyšší



Sugui et al. (2010) J Clin Microbiol 48: 220–228.



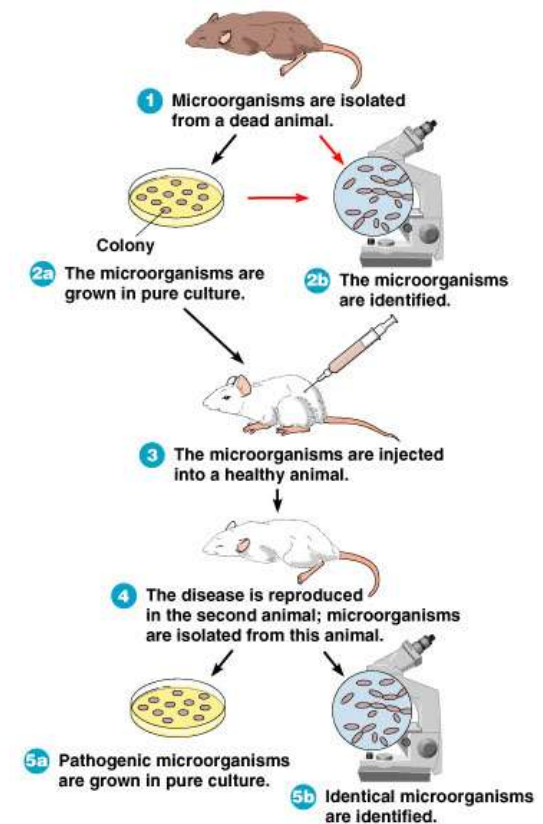
Vít Hubka, M.D., MSc., Ph.D.
Charles University

KOCHOVY POSTULÁTY



Soubor pravidel a postupů pro prokázání příčinné souvislosti mezi patogenem a nemocí.

1. mikroorganismus pozorován u všech nemocných jedinců a v žádném zdravém
2. musí být izolován z nemocného jedince a vypěstován v čisté kultuře
3. zdravý pokusný objekt musí po naočkování dostatečného počtu jedinců z čisté kultury patogena onemocnět a vykazovat stejné příznaky onemocnění
4. z nemocného pokusného objektu musí být izolován mikroorganismus identický s tím, který byl pozorován a izolován z původního nemocného jedince



Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.



Vít Hubka, M.D., MSc., Ph.D.
Charles University

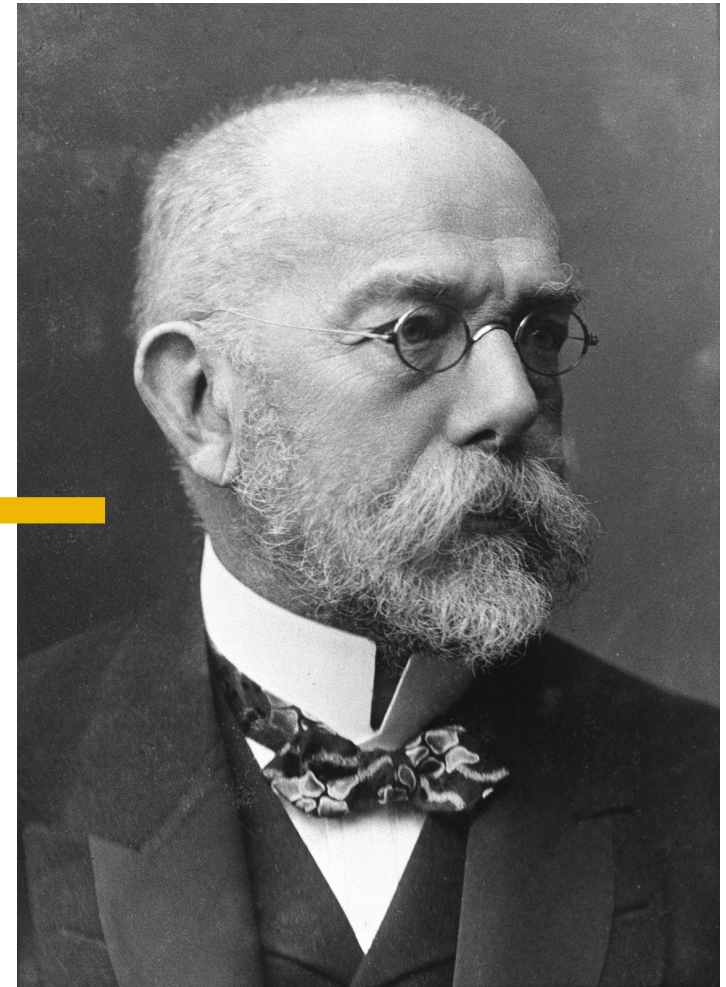
ROBERT KOCH

1843–1910

Německý lékař a mikrobiolog, zakladatel bakteriologie a nositel Nobelovy ceny za fyziologii a lékařství (1905).

Objevil původce TBC a cholery.

Jako první prokázal, že *Bacillus anthracis* je původcem anthraxu (1876) a vypracoval tzv. Kochovy postuláty.



Vit Hubka, M.D., MSc., Ph.D.
Charles University

KOCHOVY POSTULÁTY VÝJIMKY

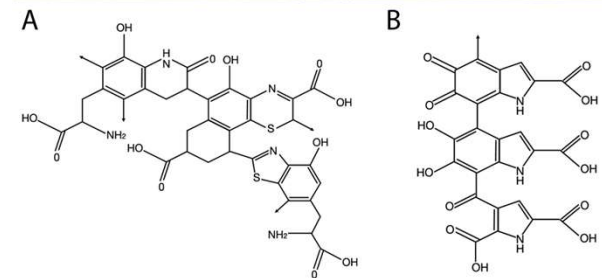
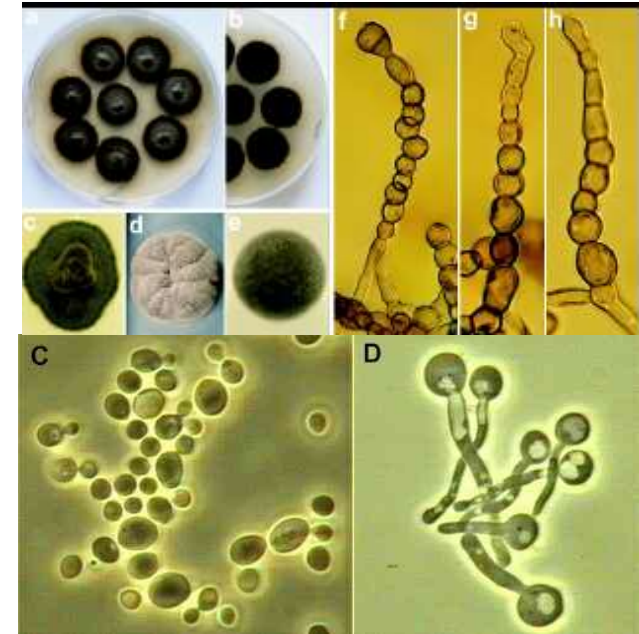


- **oportunistické patogeny, fyziologická flóra** - způsobují chorobu jen za určitých okolností
 - např. některé druhy *Candida*, které tvoří běžnou mikroflóru GIT, mohou za určitých okolností způsobit onemocnění
- **nekultivovatelní / obligátní intracelulární patogeni** (mikrosporidie, *Lacazia loboi*)
 - někdy možnost kultivace na tkáňových kulturách / inokulace z hostitele přímo na jiného hostitele
- onemocnění je současně způsobeno synergií **více patogenních mikroorganismů**



Faktory virulence

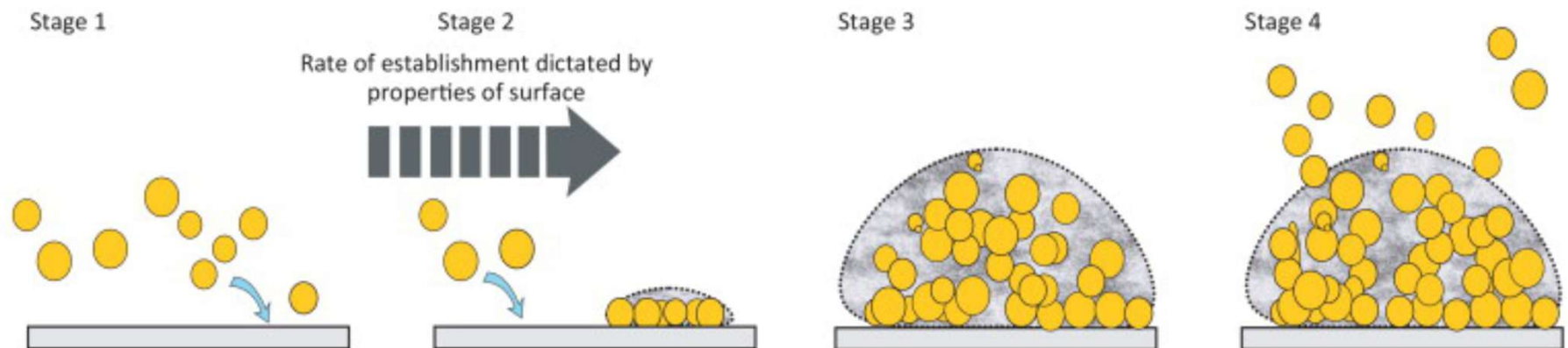
- **schopnost růstu při 37 °C**
- **kvasinkové stádium**
- **povrchové antigeny** (polysacharidy, např. glukany): maskování před imunitou, rezistence k fagocytóze, destrukce imunitních bb.
- **hydrolytické enzymy**: proteázy, lipázy, fosfolipázy
- **melanizace**
- **nenáročnost na živiny** - extrémofilní houby (extrémně slané či kyselé prostředí, růst na povrchu kamenů)



Faktory virulence

více viz příští lekce zaměřená na
„faktory virulence“

- schopnost **tvorby biofilmu**
- produkce **sideroforů**
- produkce **antioxidantů**
- produkce **mykotoxinů** (gliotoxin, trichoteceny, fumonisiny, aj.)
- a další

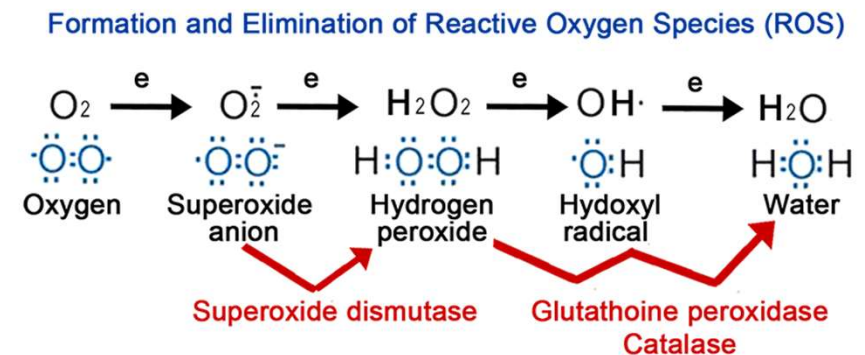
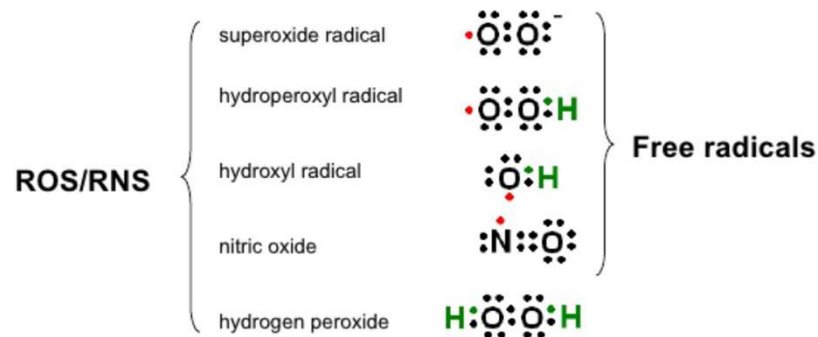


TERMOTOLERANCE



Oproti běžným podmínkám, je pro růst při vysokých teplotách pro houby zásadní:

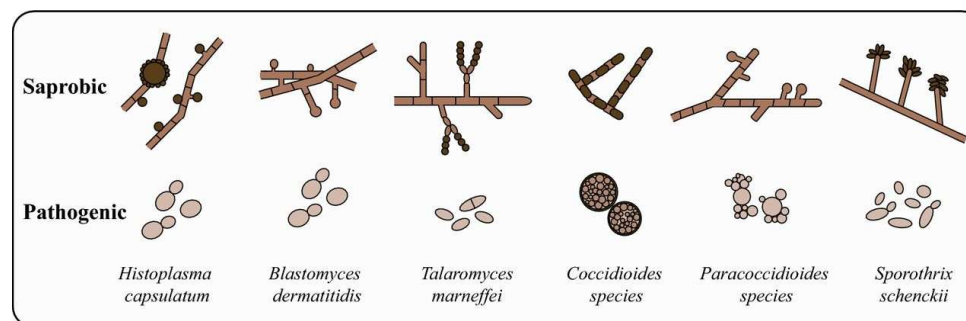
- **udržet enzymy a jiné proteiny ve správné konfiguraci (chaperony, včetně heat shock proteinů)**
- **přežít zvýšený oxidativní stres** (RONS - reaktivní kyslíkové a dusíkové radikály) - společně i s obranou proti imunitě hostitele → antioxidanty a enzymy zneškodňujících radikály
- **udržení fluidity** (s teplotou se zvyšuje) **a propustnosti membrány** na přijatelné úrovni (změny v množství syntetizovaného ergosterolu a integrálních proteinů)
- změny v signálních kaskádách jsou logickým důsledkem změny exprese řady výše uvedených genů



DIMORFISMUS / POLYMORFISMUS



- má se za to, že i malé změny v toleranci vyšších teplot významně ovlivňují virulenci mikroorganismů a také průběh onemocnění u hostitele
- přechod do parazitické patogenní formy má zásadní význam pro virulenci dimorfních hub - **nejen změna tvarová**, ale i **metabolická** (preference jiných substrátů, produkce melaninu), mění se **složení stěny, membrány a antigenicita** [zásadní zastoupení α -(1,3)-glukanu], zvyšuje se **obranyschopnost patogena proti imunitě** (zabití neutrofily, monocyty a makrofágy) a možnosti **diseminace**
- zásadní i **rychlost změny**: nízcе virulentní kmeny *Histoplasma capsulatum* potřebují více času na přechod z myceliální do kvasinkové fáze při 37°C



PRODUKCE SIDEROFORŮ

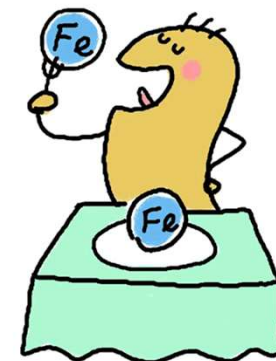


siderofory - látky schopné s vysokou afinitou vázat železo

chelátory - obecnější pojem pro látky vázající kovy

železo = esenciální prvek téměř všech prokaryotických i eukaryotických organismů

- 4. nejč. prvek zemské kůry, v oxid. stavech -2 až +6
- **u člověka jako +2 (železnatý) nebo +3 (železitý kation)**
- **živočišná strava: hemové Fe** (proteiny obsahující hem) - vnitřnosti (např. játra): krev (hemoglobin); svalová tkáň (myoglobin); **nehemové Fe** (zásobní a transportní)
- **rostlinná strava - fytáty**, Fe v málo dostupné formě, obs. i další látky snižující absorpci Fe × vit. C vstřebávání Fe zvyšuje



Formy a funkce železa v lidském organismu:

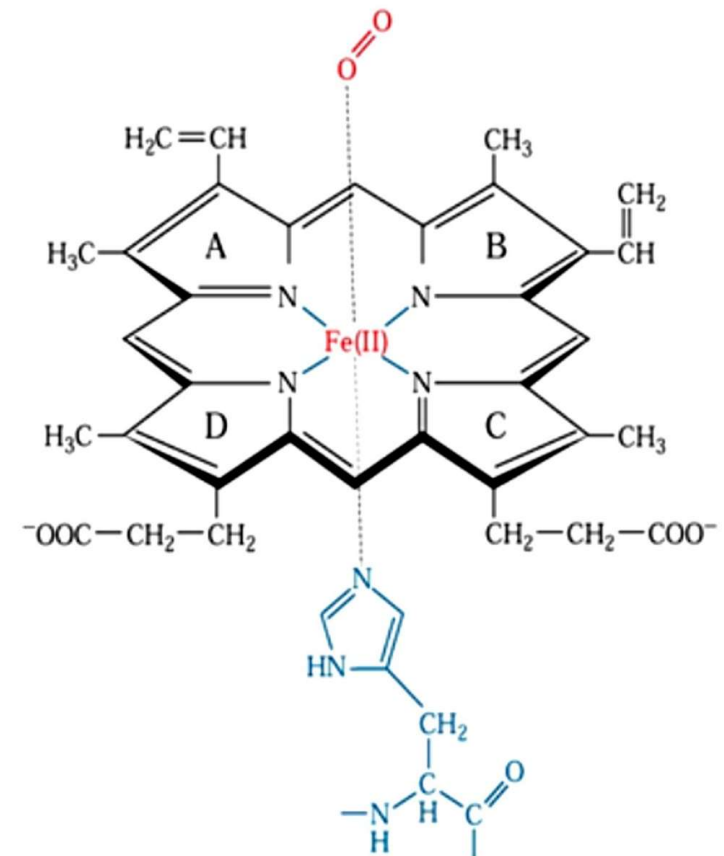
Forma	Funkce	Protein
Aktivní železo	transport kyslíku přenos elektronů rozklad peroxidu vodíku	hemoglobin, myoglobin cytochromy a-c, cytochromoxidáza kataláza, myeloperoxidáza
Zásobní železo		ferritin, hemosiderin
Transportní železo		transferin



STRUKTURA HEMU U ČLOVĚKA



- **hemoglobin: hem** (metaloporfyrin, cyklický tetrapyrrol) + **globin** (bílkovina)
- **konjugovaný systém dvojných vazeb:**
-C=C-C=C-
- **4 atomy dusíku**
- **železnatý kation (Fe^{2+})** - uprostřed tetrapyrrolového skeletu
- **vazba kyslíku**

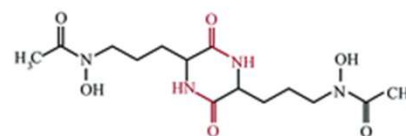


SIDEROFORY - NÁSTROJE PRO „KRADENÍ“ Fe

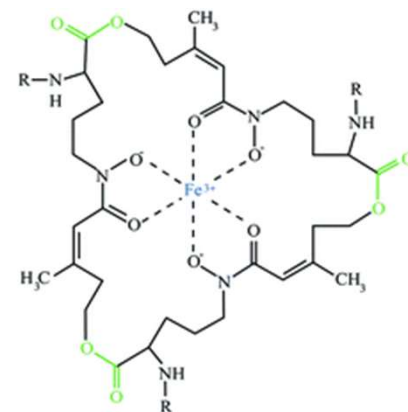


4 hlavní chemické skupiny sideroforů u hub

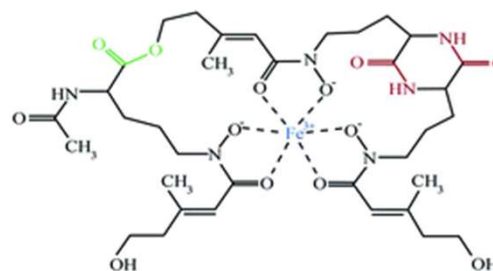
- **fuzarininy**
- **koprogeny**
- **ferrichromy**
- **rhodotorulová kyselina**
- jejich cyklizace zlepšuje stabilitu
- mají společnou tzv. hydroxamovou skupinu



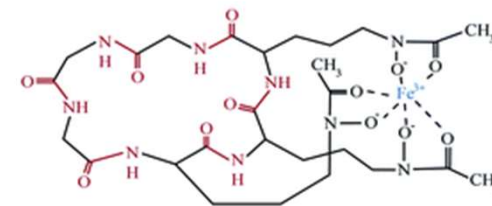
Rhodotorulic acid



Triacetylfusarinine C
(R = Acetyl)



Coprogen



Ferrichrome



JAK SI LIDSKÝ ORGANISMUS „HLÍDÁ“ FE PŘED MIKROORGANISMY?



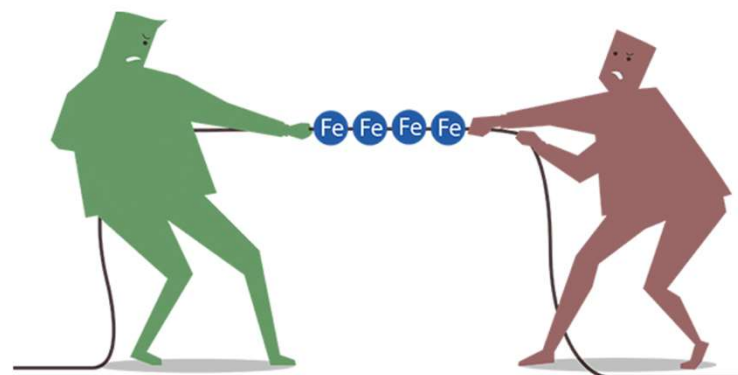
LAKTOFERIN - bílkovina vážící Fe uvolňována z leukocytů a buněk, přítomná v sekretech, slzách a mléce

- jeden z mechanismů nespecifické imunity
- vyvázání Fe vede k jeho nedostatku pro mikroorganismy → narušuje jejich metabolismus a množení

HAPTOGLOBIN - vychytává volný hemoglobin uvolněný hemolýzou erytrocytů, jeho konc. v plazmě zvyšuje při infekci

FERRITIN - váže zásobní Fe v játrech, slezině, kostní dřeni a střevu

- zvýšená syntéza při zánětu → snížení dostupnosti Fe pro mikroby



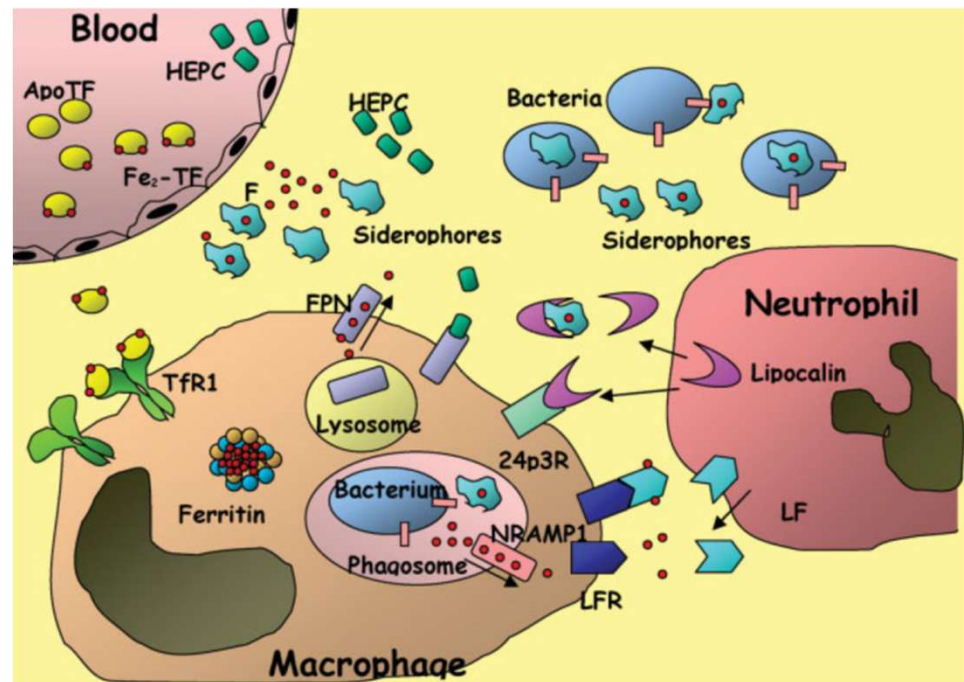
JAK SI LIDSKÝ ORGANISMUS „HLÍDÁ“ FE PŘED MIKROORGANISMY?



HEPCIDIN (hormon) - vysoká hladina působí zadržení Fe v buňkách střeva a makrofázích

FERROPORTIN - snižuje uvolňování Fe z buněk, regulován hepcidinem (vysoká hladina při zánětu)

LIPOKALIN - glykoprotein neutrofilů, váže siderofory mikroorganismů



ADHEZE A TVORBA BIOFILMU



první krok předcházející kolonizaci, invazi a případné diseminaci patogena v hostiteli

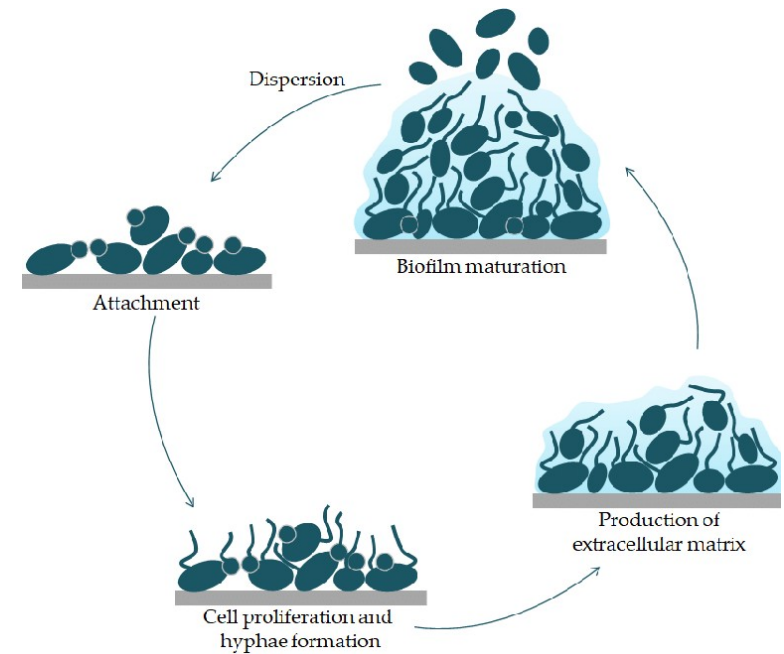
- **buňka ↔ buňka; buňka ↔ extracelulární matrix**
- na buněčné stěně, nebo kapsuli patogena přítomny **adhezivní molekuly** (receptory) rozpoznávající jiné molekuly na epitelu, endotelu, sérových proteinech, extracelulární matrix
- např. *glycoprotein gp43* - váže se k lamininu - adheze k bazální membráně a dalším komponentám extracelulární matrix (mimo jiné také hraje roli v diseminaci maligních tumorů)



TVORBA BIOFILMU



- **biofilm = nejčastější forma mikrobiálního růstu v přírodě**
- tvořen **buňkami a extracelulární matrix** („lepidlo“)
- ochranné 3-rozměrné prostředí - **adheze k povrchu + koheze mezi buňkami**
- **řízené uvolňování buněk** z matrix a výživa buněk
- fyzikální vlastnosti: **ochrana proti imunitě a pronikání ATM**
- s biofilmem spojené infekce *C. albicans* jsou 4. nejastější příčinou mortality mezi nozokomiálními infekcemi
- **katetrové sepse, slizniční a ranné infekce, osidlování umělých materiálů**, aj.
- biofilm tvoří i další houby - *Aspergillus*, *Cryptococcus*, aj.



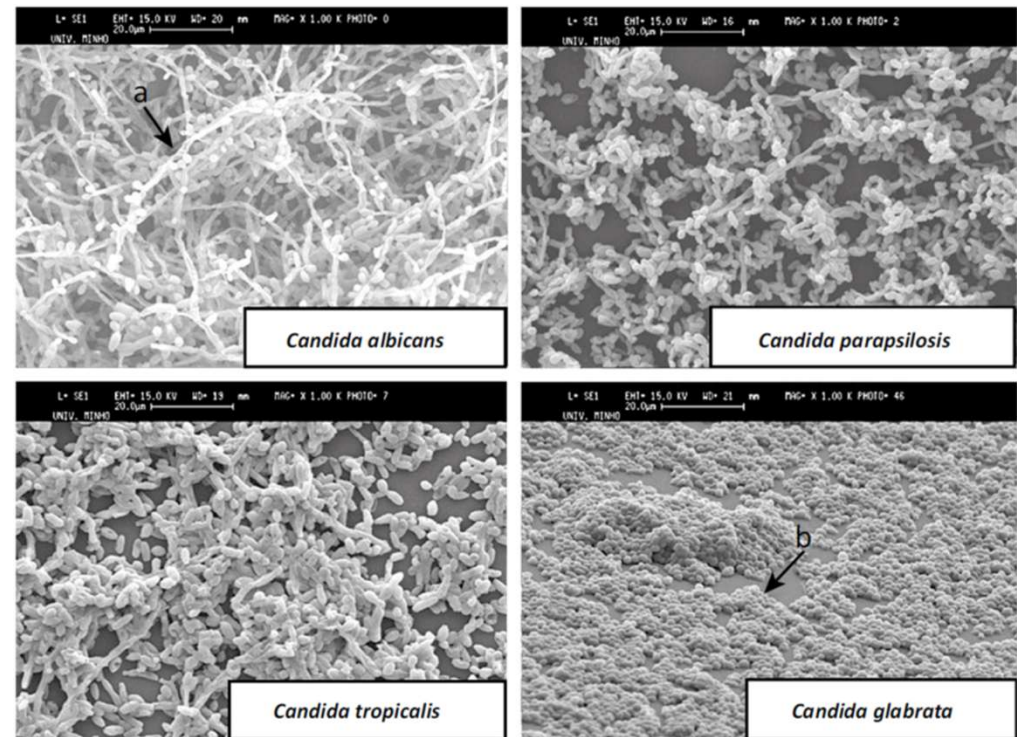
Talapko et al. (2021) J Fungi 7: 79



SLOŽENÍ BIOFILMU



- **polysacharidy > proteiny > lipidy, nukleové kyseliny**
- složení z velké části **podobné složení buněčné stěny**
- **největší rozdíly** mezi druhy **na úrovni proteinů**
- časté modifikace sítě až po jejím vytvoření (např. pomocí extracelulárních enzymů)
- *in-vivo* je významná část matrix tvořena proteiny hostitele (hemoglobin, albumin, globuliny, fibrinogen, keratin, aj.)



Araujo et al. (2016) Trends Microbiol 25: 62-75



PRODUKCE MELANINU



- **melaniny = negativně nabité, hydrofobní, černě nebo hnědě pigmentované polymery fenolických sloučenin**
- **výskyt melaninu:** mycelium, stěna spór, sklerócia, plodnice

VLASTNOSTI A FUNKCE

- strukturální pevnost
- ochrana × **UV záření, volným radikálům a oxidativnímu stresu**
- ochrana × **enzymům degradujícím BS**
- ochrana × **suchu, salinitě a změnám osmolarity**
- ochrana × **toxicitě těžkých kovů**
- často vysoká produkce u extremofilních organismů



PRODUKCE MELANINU



FUNKCE V PATOGENEZI

- antioxidační vlastnosti **neutralizují oxidační produkty imunitního systému** vč. volných radikálů
- **přežití fagocytózy** neutrofily/makrofágy
- ochrana × **účinkům některých ATM**

FEOHYFOMYKÓZA

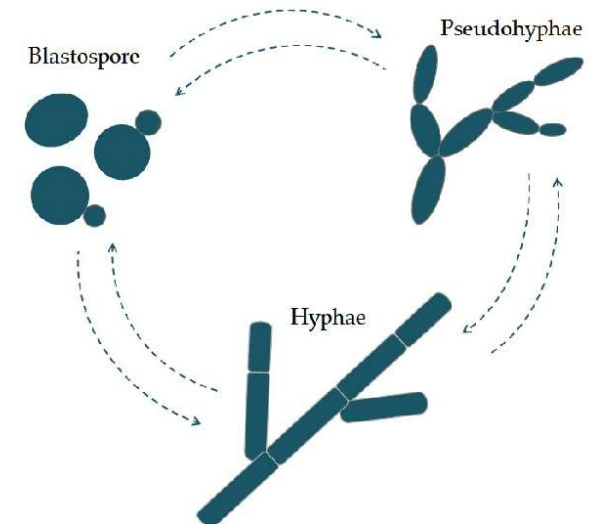


POLYMORFISMUS

CANDIDA ALBICANS

C. albicans může růst ve více formách – kvasinkové bb. a mycelium mají různé role v patogenezi

- kvasinkové pučící buňky (diseminace)
- pravé mycelium (více invazivní)
- pseudohyfy
- chlamydospory
- neprůsvitné bb. (opaque cells)



Dimorphism



Switching

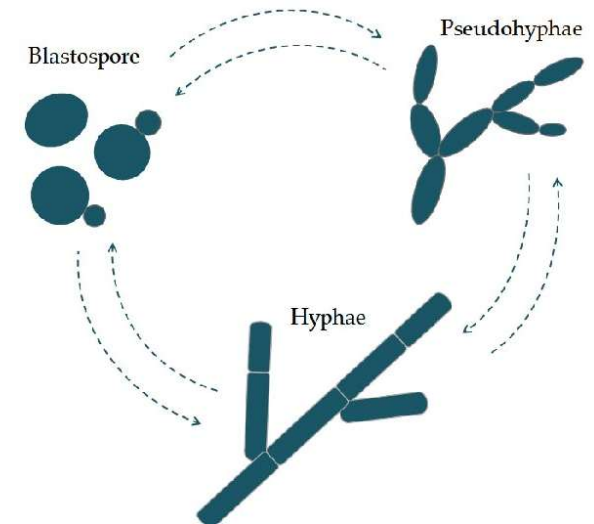


Pozn. opaque cells méně viditelné pro imunitu

POLYMORFISMUS

CANDIDA ALBICANS

- **nízké pH** (< 6): převažuje **kvasinková** forma (vagína: pH 4-5)
- **vyšší pH** (> 7) převažuje **hyfální** forma (pH plasmy ca 7,4)
- **mezibuněčná komunikace** (farnesol, tyrosol, dodecanol) - vysoké buněčné denzity ($> 10^7$ bb. ml⁻¹) indukují kvasinkovou formu × nízké denzity hyfální formu



Dimorphism



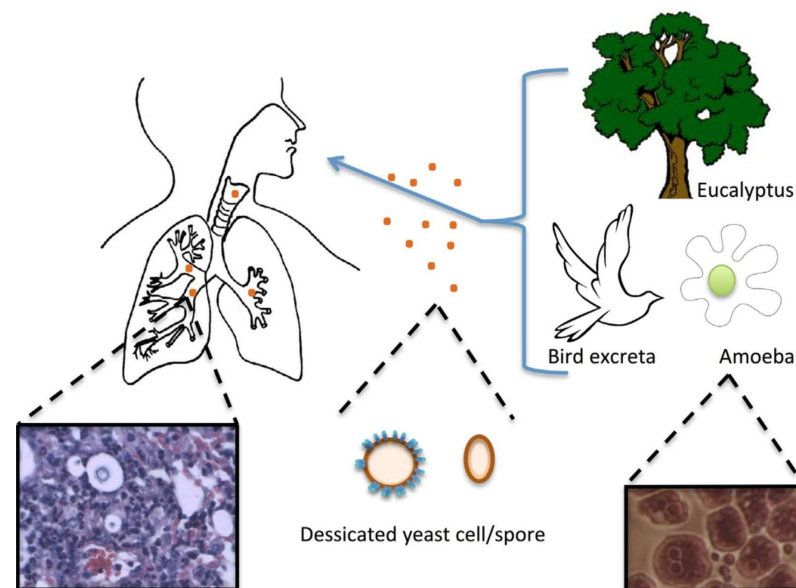
Switching



FV *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS*



- **původce plicních infekcí a následných meningoencefalitid**
- **přirozený výskyt:** *Eucalyptus*, půda, ptačí exkrementy; tropy a subtropy celosvětově (Mediterrán), mírný pás Severní Ameriky
- kryptokokové meningoencefalitidy jsou ve světovém měřítku nejčastější invazivní mykózy u AIDS pacientů (zodpovědné za 15% úmrtí spojených s AIDS)
- celosvětově působí 7-8% invazivních mykóz u pacientů po transplantaci solidních orgánů



Coelho et al. (2014) Adv Appl Microbiol 87: 2-28

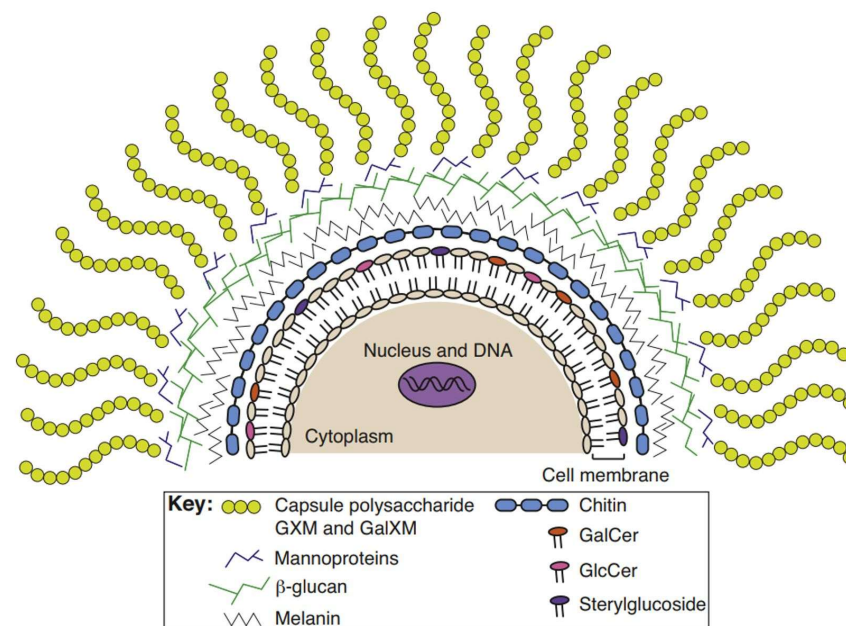


FV *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS*



POUZDRO (KAPSULA)

- vyvinulo se jako obrana × stresovým podmínkám v prostředí, útoku améb apod.
- **za příznivých podmínek v prostředí se netvoří,** ale **pravidelně nalézáno u klinických kmenů**
- **glukuronoxylomanan (GXM)**, rozšiřuje BS, **heteropolymer** - nevětvené řetězce α -1,3 vazbami spojených **manóz** substituovaných **xylózou** a **glukuronovou kyselinou**
- struktura GXM se mírně liší dle sérotypu patogena



Caballero et al. (2018) Trends Microbiol 26: 436-446

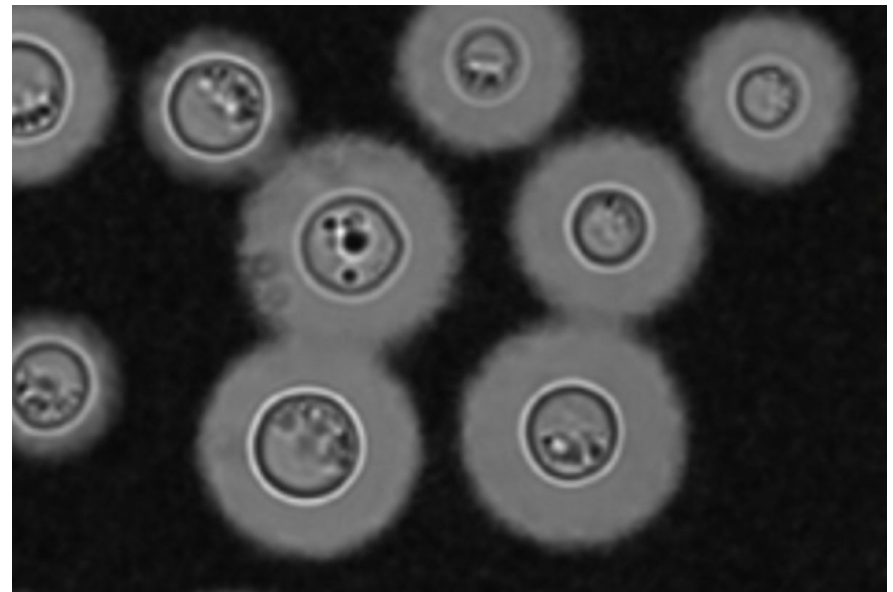


FV *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS*



VÝZNAM POUZDRA PRO PATOGENEZI

- **významné pro invazi**, usnadňuje rozvoj infekce
- **negativní náboj** - ochrana před fagocytózou a zničením neutrofily, monocyty a makrofágy
- zodpovídá také za **zneškodnění kyslíkových radikálů**, **antimikrobiálních látek**, **komplementu**, neefektivitu **protilátek**, a **dysregulaci sekrece cytokinů** monocyty a makrofágy (např. $\text{TNF}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$ a IL-6)



Coelho et al. (2014) Adv Appl Microbiol 87: 2-28



příští téma

MYKOLOGICKÉ VYŠETŘOVACÍ METODY A ZPRACOVÁNÍ MATERIÁLU

LÉKAŘSKÁ MYKOLOGIE



Vít Hubka, M.D., MSc., Ph.D.
Charles University